Aus der Chirurgischen Universitäts-Klinik Göttingen
Direktor: Prof. Dr. Stich

Über
Phagozytose und Speicherung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der Georg-August-Universität
zu Göttingen

vorgelegt von

Elisabeth Mannkopff
aus Göttingen

Der Mediz. Fakultät Göttingen vorgelegt am 1. Juli 1924

Referent: Professor Dr. von Gaza Correferent: Professor Dr. Stich

Buchdruckerei August Rüttgerodt, Göttingen

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

I. Teil. Über Phagozytose und Speicherung.

Die Aufnahme fester Stoffe in Zellen ist schon lange bekannt, sie wurde zuerst bei der Nahrungsaufnahme der Protozoen beobachtet und beschrieben.

Später fand Metschnikoff, daß auch in Zellen von Metazoen Aufnahme fester Stoffe — Phagozytose — vorkommt. Sie wurde zuerst für die weißen Blutkörperchen beschrieben, im Lauf der Zeit noch bei den verschiedensten Zellarten beobachtet.

Ausgezeichnete Übersichten über das ganze Gebiet der Phagozytose gaben P. Ernst (in Krehl-Marchand: Handbuch der allgemeinen Pathologie 1916) und Biedermann (in Winterstein's Handbuch der vergleichenden Physiologie 1911), sowie Metschnikoff (in Kolle-Wassermann, Handbuch der pathologischen Mikroorganismen 1911) unter Berücksichtigung der gesamten Literatur.

Ich ziehe daher die Literatur vor 1916 nur heran, soweit sie zum Verständnis der neueren Arbeiten nötig is.

Eine weitere zusammenfassende Arbeit über Phagozytose — vom immun-biologischen Standpunkt — geben Nicolle und Césari 1922.

P. Ernst definiert die Phagozytose als „selbständige Aufnahme fester körperlicher Stoffe durch Zellen, ihre Verdauung (Digestion), ihre Einverleibung (Assimilation), und Ausstoßung (Exkretion) des unverdaulichen Restes". Zugleich warnt er: man halte nicht alle intrazellulären Stoffe für phagozytiert — z. B. für intrazelluläre Fett-, Öl- und Myelintropfen will er Phagozytose der Fetttropfen (in den Darmepithelien von Hydra (Beutler) — von Resorption gelösten Fettes — wie im Darm des Menschen — unterschieden wissen.

Zu einer erweiterten Auffassung des Begriffs Phagozytose kam Schulemann auf Grund seiner Vitalfärbungsversuche. Er stellte fest, daß ein und dieselbe Zellkategorie (Zellen mesenchymalen Ursprungs, im wesentlichen Zellen des reticulo-endothelialen Apparates, und Histiozyten, die man zusammengefaßt als Makrophagen bezeichnen kann) Säurefarbstoffe in jedem Lösungszustand speichert; ebenso Metallkolloide, Tuberkelbazillen, Erythrozyten und Leukozyten, Tuschesuspensionen, Gallenfarbstoffe und Cholesterin. Das sind Stoffe, deren Teilchengröße von Ionen und Molekülen verschiedener Größe bis zu mikroskopisch sichtbaren Maßen schwankt (Schulemann). Da zwischen der Aufnahme der feinsten amikroskopischen, und der gröberer Teilchen, ja ganzer Zellen, nur graduelle, aber keine prinzipiellen Unterschiede bestehen; da verschieden große Teilchen der gleichen Farbstoffe in ganz gleicher Weise gespeichert werden, schlägt Schulemann vor, den Begriff „Phagozytose", der bisher nur für die Aufnahme gröberer

Teilchen galt, auch auf amikroskopische Teilchen zu erweitern, um die Einführung eines neuen Begriffs zu vermeiden.

Im Gegensatz dazu betont Westhues den Unterschied zwischen Phagozytose und vitaler Speicherung. Nicolle und Césari fassen die Phagozytose wie Ernst auf — (als Fähigkeit gewisser mobiler oder fixer Zellen, feine organische oder anorganische Partikel aufzunehmen und, wenn assimilierbar, aufzulösen) — und betonen, daß das Phänomen gebunden ist an das vollständige oder teilweise Fehlen einer Membran, an die vollständige oder teilweise Beweglichkeit der Zelle und die Gegenwart passender Enzyme.

Nach Verworn unterscheidet man zwei Arten der Aufnahme:

1. Einzellige Organismen mit differenziertem Zellmund und Zellmembran. Die Nahrung wird durch Wimpern hereingestrudelt oder die Zelle „lutscht" sich durch die Kraft des Wimperschlags über große Nahrungsballen herüber.

2. Bei amöboiden Zellen — wo der Import an der ganzen Zelloberfläche möglich ist — bewirken Nahrungskörper durch den Berührungsreiz Ausscheidung eines klebrigen Sekrets, haften fest und werden durch aktive Bewegung des Protoplasmas aufgenommen — eine Ansicht, die bezüglich des klebrigen Sekrets durch die neueren Anschauungen über Oberflächenwirkungen widerlegt ist.

Doch muß man bei den amöboiden Zellen unterscheiden (P. Ernst) a) Nahrungsumfließung — wo die Zelle sich durch aktiven Formwechsel um die Nahrung bemüht, und b) Nahrungsimport, wobei das unbewegliche Protozoon die Nahrung ins Innere zieht.

Als Gesetzmäßigkeit für diese Vorgänge fand Schaeffer, daß hungrige Amöben die Eiweißbrökel durch „Nahrungsbecher" (d. h. schon vor Erreichung des Objekts becherförmig eingestülpte Pseudopodien) aufnahmen, im Zustand der Sättigung durch einfache Umfließung.

Nach Nicolle-Césari ist das Phänomen der Nahrungsaufnahme abhängig von der Viscosität der Phagozyten (bei geringer Viscosität — klassische Form der Aufnahme; bei stärkerer Viscosität — einfaches Eindringen; oberhalb einer Grenze-Aufhören der Phagozytose).

Wenn man die physiologische Vernichtung untergehender Gewebszellen, besonders von Epithelien, durch Schwesterzellen, (wie sie Gräper am Dottersackepithel von Acanthias im Rückbildungsstadium beobachtete), ebenfalls als Phagozytose bezeichnet, so ergibt sich, daß amöboide Beweglichkeit durchaus keine Vorbedingung für die Phagozytose ist. Auch Ruth Beutler sah Phagozytose ohne amöboide Bewegungen am Darmepithel von Süßwasserhydren. Paillot fand (beim Studium septikämischer Prozesse bei Insekten, bei denen Infektionen als reine Septikämie ohne Toxinwirkung verlaufen,) keine aktive Tätigkeit der Phagozyten, keine Anlockung durch die Erreger, beobachtete aber Phagozytose trotz des Fehlens von amöboiden Bewegungen.

Mechanismus der Phagozytose.

Rhumbler hat — in seiner bekannten Arbeit — die physikalische Analyse für den Nahrungsimport durch Einziehung (im Gegensatz zur einfachen Umfließung durch amöboid bewegliche Zellen) gegeben.

Er ging aus von der merkwürdigen Beobachtung, daß Amöben Algenfäden, deren Länge die der Amöbe weit übersteigt, aufzunehmen vermögen. Pseudopodien fließen längst des Algenfadens vor, biegen sich um und knicken so den Faden, der jetzt ohne sichtbare Anstrengung der Amöbe in deren Plasmakörper gleitet. Hier wird er aufgeknäuelt. Er dringt dabei schneller ein, als die langsame Bewegung der Pseudopodien erwarten läßt. Ausgehend von der Beobachtung, daß jede Flüssigkeit fremde Körper importieren kann, wenn die Adhaesion zwischen beiden genügend groß ist, ahmte Rhumbler diesen komplizierten Vorgang im Modellversuch nach.

Zunächst die Aufnahme: ein kurzer Glasfaden, an die Mündung einer wassergefüllten Kapillare gebracht, wurde mit großer Schnelligkeit hineingezogen und kam erst zur Ruhe, nachdem er ganz verschwunden war. In zähen Flüssigkeiten erfolgte die Aufnahme langsamer. Die Einfuhr mit Bildung eines Importhügels ahmte Rhumbler nach durch Aufnahme von alkoholbenetzten Glasstäbchen in alkoholischer Mastixlösung — die Mastixlösung fließt pseudopodienartig ziemlich schnell auf den Glasstab vor, zieht dann die vorgeflossene Masse mit dem Stück Glasfaden, das sie erfaßt hat, zurück, um dann wieder ein Pseudopodium vorzuschieben und einzuziehen bis der Glasstab verschwunden ist. Bei Aufnahme aus Luft muß die aufnehmende Flüssigkeit zum Fremdkörper eine größere Adhaesion als Kohaesionskraft zwischen den einzelnen Molekülen besitzen. Bei Aufnahme des Fremdkörpers aus einer Flüssigkeit in eine andere wird diejenige Flüssigkeit die größte Adhaesionskraft haben, die den Importhügel bildet und den Import besorgt.

Die Aufrollung sehr langer Fäden ahmte Rhumbler durch Schellackfäden nach, die er unter Wasser von Chloroformtropfen fressen ließ; also durch ein elastisches Material, das nach der Aufnahme biegsamer wurde. Der Vorgang am Modell entsprach gnau in allen Phasen den oben für algenfressende Amöben beschriebenen.

Das phagozytierte Objekt wird — nach alten Beobachtungen an Amöben — entweder nach Art der Rhumbler'schen Versuche langsam in die Zellen hineingezogen, oder es verschwindet blitzschnell. Auch bei Leukozyten scheinen alle diese Arten der Aufnahme vorzukommen.

Barikine fand bei der Phagozytose von Erythrozyten Anlagerung derselben an den Leukozyten und Aufnahme durch amöboide Bewegungen. Le Fèvre beschreibt die Phagozytose von Vibrionen durch frische Leukozyten, im Ultramikroskop beobachtet, wie folgt: „einzelne Mikroben berühren auf ihrem Wege den Phagozyten, und verschwinden augenblicklich darin, wie ein sehr kleiner flüssiger Tropfen sich plötzlich in einen größeren verliert, mit dem er in Berührung kam". Paillot fand bei Infektion von Insekten eine Anhäufung der Keime — infolge chemisch-physikalscher Prozesse — an der Zelloberfläche der Phagozyten. Von dort wurden sie unter Umständen — ohne aktive Mithilfe der Phagozyten — durch Protoplasmaströmung ins Zellinnere gebracht, wo sie als Parasiten blieben. Ruth Beutler hat (bei Studien über Verdauungsvorgänge im Darmepithel von Süßwasserhydren) bei lebenden Hydren unter dem Mikroskop gesehen, wie die zu fressenden Ruß- und

Nahrungspartikel durch den Schlag der Geißeln gegen die vorgewölbte Nahrungsvakuole der Epithelzellen geschleudert wurden. Die Bilder entsprachen denen, die Cienkowski über die Nahrungsaufnahme bei Flagellaten gibt. Bei der Hydra wurde das Eindringen der Partikel in die Zelle nicht beobachtet; doch ließ sich Ruß in der Nahrungsvakuole nachweisen.

Die Phagozytose bei Leukozyten wird nach den Beobachtungen in vitro (nach Le Fèvre) schematisch zerlegt in zwei Akte: 1) Anlagerung 2) Aufnahme. Doch sind diese Stadien isoliert nur bei Amöben beobachtet worden.

Für die Beobachtung der Leukozyten arbeitete Le Fèvre daher mit abgetöteten oder durch Kälte gelähmten Leukozyten, um das erste Stadium isoliert zu erhalten. Die Anlagerung fand er dabei weder an das Leben der Leukozyten, noch an die Virulenz der Bakterien geknüpft, doch spielte die Art der Abtötung eine Rolle — bei 56° getötete Vibrionen hatten die Eigenschaft verloren. (Le Fèvre benutzte durch Immunsera sensibilisierte Vibrionen), wohl infolge Veränderungen ihrer Oberfläche durch Hitze (was ein Beweis für die weiter unten zu besprechende Theorie Höber's sein dürfte). Abtötung in Formol 1:100000 war ohne Einfluß. Die Anlagerung, die man als heterologe Agglutination nach Höber-Kanai auffassen kann, scheint durch die Beschaffenheit der Leukozyten bedingt; bei Leber- und Nierenzellen war sie nicht festzustellen (Barikine).

Phagozytose großer Objekte.

Der Phagozytose sind durch das Verhältnis von Größe der Phagozyten zur Größe des Objekts gewisse Grenzen gesetzt.

Aufnahme kleinster Teilchen erfolgt durch Einziehung, größere werden in amöboiden Zellen durch Umfließung aufgenommen; Amöben umfließen — nach Schaeffer — sogar Eiweißbrocken, die um ein Vielfaches größer als sie selbst sind; aber nur, um sie bald wieder zu verlassen. Sehr große Objekte werden von manchen Protozoen — und in analoger Weise im Organismus — durch Riesenzellen bewältigt, d. h. ein Zusammenfließen mehrerer Zellen zum Zweck der Aufnahme großer Nahrungsbrocken. Nach Verdauung der aufgenommenen Nahrung trennt sich bei gewissen Protozoen die Riesenzelle, aus zwei bis drei Tieren gebildet, wieder in Einzelindividuen.

Im Organismus scheinen Riesenzellen sowohl durch Synzytiumbildung als auch durch unvollständige Zellteilung entstehen zu können; Aufnahme, und bei geeigneten Stoffen intrazelluläre Verdauung von Fremdkörpern, ist vielfach bei ihnen beobachtet worden. Objekte, die zur Aufnahme in eine Zelle zu groß sind, werden von phagozytären Zellen umgeben und an ihrer Oberfläche angenagt, d. h. gelöst und resorbiert, analog der physiologischen Knochenresorption.

Phagozytose und Chemotaxis.

Rhumbler hat mit seinem Modellversuch viele unerklärliche Vorgänge auf einfache phvsikalisch-chemische Tatsachen zurückzuführen

versucht. Zu den vielen ungeklärt gebliebenen Fragen gehört die nach den Beziehungen zwischen Phagozytose und Chemotaxis.

Für Protozoen gibt es zahlreiche eindeutige Beobachtungen über Beeinflussung durch chemische Reize. Für Phagozyten der Metazoen liegen die Verhältnisse viel verwickelter — man denke nur an die Zusammenhänge zwischen Immunität, Virulenz von Krankheitserregern und der Anlockung von Leukozyten, die (nach P. Ernst) von keiner Gesetzmäßigkeit beherrscht scheint.

Für die Entstehung der Leukozytenbewegungen im Organismus, von Leukozytenansammlungen und Gruppierungen am Orte des Reizes gibt es zwei Hypothesen: entweder die Leukozyten wandern regellos im Gewebe und werden am Ort des Reizes gelähmt und so festgehalten (Lähmungshypothese), oder sie bewegen sich durch den chemotaktischen Reiz angezogen aktiv und geordnet zum Ort der Reizung (Attraktionshypothese).

Die Lähmungshypothese ist unzulänglich zur Erklärung schnell entstehender großer zelliger Exsudate; auch verträgt sie sich nicht mit der Tatsache, daß im entzündeten Gewebe — also am Ort des chemotaktischen, „lähmenden" Reizes — die phagozytäre Fähigkeit und zugleich damit wohl alle anderen Lebensprozesse der Wanderzellen gesteigert sind. Doch wurden auch gegen die Anlockungshypothese gewichtige Bedenken vorgebracht. Durch neue Arbeiten von de Haan und Feringa scheint der Streit jetzt zu Gunsten der Attraktionshypothese entschieden zu sein.

De Haan und Feringa injizierten, um bei Kaninchen Leukozyten zu Versuchszwecken zu gewinnen, größere Flüssigkeitsmengen (200 ccm) intraperitoneal und stellten dabei fest, daß indifferente Flüssigkeiten, wie physiologische NaCl-Lösung oder Ringerlösung, stets die gleiche chemotoktische Wirkung ausübten, gleichgültig, ob sie mit oder ohne Zusätze (wie Glucose, Stärkekleister, Gummi, Terpentin, Öl, Paraffin u.a.) injiziert wurden. Die Emigration beruhte also augenscheinlich nicht auf Anlockung durch chemische Reize. Dagegen war in der Exsudatflüssigkeit stets, ebenso wie in pathologischen Exsudaten, die H-Ionenkonzentration konstant geändert und zwar im Sinne einer Vermehrung der H-Ionen gegenüber dem Blut. Verhinderte man durch Alkalizusatz das Sauerwerden der injizierten Flüssigkeit, so wurde die Emigration beseitigt. Es bestand also eine Potentialdifferenz zwischen Blut und Exsudatflüssigkeit, und diese gibt, nach Ansicht Feringa's, den Anstoß zur Emigration. Daß nur die Leukozyten, im Gegensatz zu Lymphozyten und Erythrozyten, diesem Anstoß folgen, erklärt er durch die größere Plastizität der Leukozyten.

Der Vorgang ließ sich im Modellversuch nachahmen. Polynukleäre Leukozyten (von Pferd und Frosch) auf Agar in Ringerlösung kriechen bei Durchleitung konstanten Stromes anodenwärts durch amöboide Bewegungen. Bei Stromumkehr hört die Bewegung auf, die Pseudopodien werden eingezogen und es werden neue in entgegengesetzter Richtung

ausgestreckt. Erythrozyten und Lymphozyten zeigen diese Reaktion auf das Potentialgefälle nicht. Feringa's Befunde finden eine gewisse Bestätigung durch die Tatsache, daß bei nekrobiotischen Vorgängen Säuren als Abbauprodukte gebildet werden, und daß derart geschädigte Gewebe stets positiv „chemotaktisch" auf Leukozyten wirken.

Galvanotaxis.

Die Wanderung mit dem elektrischen Strom wurde als Galvanotaxis schon längst bei Infusorien beobachtet und beschrieben. Höber (Allg. Phys. d. Zelle, S. 602 Leipzig-Berlin 1914) glaubt, daß sie bis jetzt noch immer am besten durch die Annahme (von Loeb und Budgett) erklärt wird, daß der konstante Strom an der Protoplasmaoberfläche Änderungen von Ionenkonzentrationen herbeiführt, welche als Reize — seien es Bewegungs- oder Wachstumsreize — wirken, indem etwa, je nach Natur der sich unter der Plasmahaut sammelnden Ionen die Permeabilität steigt oder sinkt, oder Dispersitätsänderungen der Kolloide in einem oder dem anderen Sinne erzeugt werden.

In entzündlich veränderten Geweben ist die Phagozytose besonders lebhaft; teils, weil hier reichlich Material vorhanden ist, andrerseits scheint die phagozytäre Fähigkeit der Leukozyten hier besonders gut entwickelt. Nun fand Hamburger, der den Einfluß verschiedener Stoffe auf die Phagozytose in vitro prüfte, daß durch gewisse Säuren in starken Verdünnungen — z. B. Buttersäure 1 : 500000 — die Phagozytose gefördert wird. „Da die günstigen Konzentrationen der niedrigen Fettsäuren bei so starken Verdünnungen liegen . . ", ist es „sehr wahrscheinlich (v. Gaza 1918), daß die bei nekrobiotischen Vorgängen auftretenden Säuren die Phagozytose im günstigen Sinne beeinflussen". Embden und Lange stellten fest, daß die Permeabilität der membranartigen Zellgrenzen durch Änderungen in der chemischen Zusammensetzung der umgebenden Flüssigkeit verändert wird, z. B. durch $CaCl_2$ oder K. Zusatz oder Fehlen in der Ringerlösung, — also durch Stoffe, die nach Hamburger die Phagozytose (bezw. Anlagerung) beeinflussen; sie fanden außerdem, daß die Permeabilität (geprüft an der Durchlässigkeit von Muskelzellen für Phosphorsäure) auch unter physiologischen Bedingungen den stärksten Schwankungen unterliegt. Wahrscheinlich handelt es sich dabei um Quellungs- und Entquellungsvorgänge, denen eine vermehrte bezw. verminderte Permeabilität entspricht. Ermüdung und Erstickung z. B. bewirkten Quellung und Steigerung der Durchlässigkeit. Narkose fassen Embden und Lange auf als verminderte Reaktionsfähigkeit auf permeabilitätsändernde Einflüsse infolge Adsorption des Narkotiums. Es liegt nahe, diese Erklärung für die Aufhebung der amöboiden Bewegungen von Amöben und Leukozyten in vitro durch Narkose anzuwenden, und ebenso für das Phänomen der Aufhebung der phagozytären Tätigkeit der Leukozyten in der Bauchhöhle von narkotisierten Meerschweinchen.

Gegen die eben erwähnten Versuche von Hamburger, die durchweg mit Tierblutkohle und Pferdeleukozyten angestellt wurden, hat neuerdings Plaut eingewendet, daß bei diesen Verfahren

1. keine sichere Entscheidung zu treffen ist, ob es sich um Anlagerung oder Aufnahme der Kohle handelt, und

2. für die Anlagerung der Kohle wegen ihrer besonderen chemisch-physikalischen Eigenschaften besondere Gesetze gelten. Die Anlagerung der Kohle geht außerordentlich leicht vor sich, sodaß „zweifelhaft scheint, ob bei ihrer Anlagerung vitale Kräfte überhaupt eine Rolle spielen".

Tatsächlich scheint es im Organismus weniger auf den zu phagozytierenden Stoff als auf die von ihm adsorbierten Eiweißkörper anzukommen. Nach den neuesten Untersuchungen von de Haan ist für Phagozytose, wenigstens bei höheren Tieren, Anwesenheit von Serumstoffen fast ausnahmslos Vorbedingung. (Gewaschene Leukozyten phagozytieren nur in Gegenwart geringer Serummengen. Phagepithelien der Hydra nehmen unverdauliche Stoffe nur auf, wenn sie durch Bestreichen mit Saft zerdrückter Daphnien „schmackhaft" gemacht wurden.) Nun sind nach de Haan z. B. Farbstoffe im Blut und Gewebsflüssigkeit durch Adsorption gebunden an die Serumkolloide, also im wesentlichen an Eiweiß; gröbere Partikelchen sind von einer Eiweißhülle überzogen. Die Phagozyten nehmen Eiweißkörper aus ihrer Umgebung auf und verdauen sie intrazellulär. Die an das Eiweiß adsorbierten Stoffe werden frei, flocken — ihres Schutzkolloides beraubt — aus und werden in der Zelle angereichert und abgelagert. Die Speicherung von Vitalfarbstoffen wäre demnach nur eine sekundäre Nebenerscheinung des normalen Zellstoffwechsels. Das Fehlen der Speicherung in polynukleären Leukozyten erklärt de Haan mit der kurzen Lebensdauer dieser Zellen — ob mit Recht, erscheint fraglich, findet man doch in Retikuloendothelien Speicherung intravenös injizierter Stoffe schon nach wenig Minuten, in Makrophagen nach wenig Stunden (Rosenthal).

Fein verteilte Kohle wird von Leukozyten leichter angelagert als Stärke; sie wird von Makrophagen und Endothelien viel schneller gefressen als Karmin (Westhues) — das wäre nach den obigen Ausführungen so zu erklären, daß die Kohle mit ihrem großen Adsorptionsvermögen stets, und reichlicher als andere Stoffe, mit irgend welchen die Anlagerung begünstigenden Stoffen beladen ist.

Wo findet sich Phagozytose?

Phagozytose findet sich als normale Form der Nahrungsaufnahme bei den Protozoen, die im Gegensatz zu den einzelligen pflanzlichen Lebewesen auf die Aufnahme geformter Nahrung angewiesen sind, eine Ausnahme bilden nur die parasitären Protozoen, die gelöste Stoffe aus den Säften des Wirtes aufnehmen und in ihrem Verhalten Zellen im Zellverbande entsprechen (Biedermann).

Die Fähigkeit zu fakultativer Phagozytose ist außerordentlich verbreitet. Seit Metschnikoff die ursprünglichen Gattungen der Mikro- und Makrophagen (poly- und mononukleäre Leukozyten) entdeckte (Metschnikoff selber hat nur diese als Phagozyten anerkannt), ist Phagozytose bei so vielen Zellen als Funktionszustand beobachtet, daß es sich heute fragt, ob es überhaupt Zellen gibt, die das Vermögen der Phagozytose ganz und gar entbehren (P. Ernst); ja, nach Kuczinski sind „Phagozyten keine besondere Klasse von

Zellen, sondern nur Tätigkeitszustände von solchen, aus besonderen Anlässen, die natürlich für bestimmte Zellen an bestimmten Orten häufiger vorkommen als für andere".

Welche Körperzellen sind nun der Phagozytose fähig?

Nicolle und Césari nehmen an, daß bei Metazoen mit aufsteigender Entwicklung erst das Ecto-, dann das Entoderm die Fähigkeit zur Phagozytose verliert; bei Vertebraten phagozytieren nur Zellen mesodermaler Herkunft. — mit Ausnahme nervöser Elemente.

Ausnahmen davon fanden Schumacher: Phagozytose durch Epithelien im Blinddarm von Waldhühnern; sowie Smith-Lewis: an Gewebskulturen von Hühnerembryonen — außer Klasmatozyten, Fibroblasten, Endothelien, weißen Blutkörperchen, Alveolar- und Bronchialwandzellen fraßen auch ectodermale Zellen — (keine Phagozytose dagegen fand er in Nerven- und Flimmerzellen, Erythrozyten und Muskelfasern).

Befunde von Phagozytose in Karzinomzellen sind nicht einwandfrei (De Meser). Doch wurde Phagozytose mit großer Wahrscheinlichkeit in Epithelien von Milch- und Talgdrüsen beschrieben, außerdem in Pigmentepithelien der Netzhaut bei Retinitis albuminurica (P. Ernst); in Gliazellen, Leberzellen, Alveolarepithelien der Lunge; in Dottersack- und Chorionepithelien (die als normale Phagepithelien gelten); nach de Haan phagozytieren auch die Tubularepithelien der Niere bei der Rückresorption, und zwar sind sie, wie die phagozytierenden Darmepithelien, einseitig orientiert.

Nach Jakobstal phagozytieren — was nicht mit den Ergebnissen anderer Autoren in Einklang steht, — außer Leukozyten auch Lymphozyten sowie Myelozyten bei Leukämie.

Besonders aber phagozytieren Serosadeckzellen, vorzüglich Peritonealepithelien und die Zellen des retikulo- endothelialen Apparates: Retikuloendothelien von Milz und Knochenmark, Kupffersche Sternzellen, Zwischengewebe der Nebenniere und adventitielle Zellen, oder nach Lubarsch die Zellen des „Makrophagen Systems" (wozu er alle Zellen rechnet, die morphologisch mit den Endothelien übereinstimmen, in nahen räumlichen Beziehungen zu Blutgefäßen stehen und in erster Linie der Aufnahme zugrunde gehender oder aus den Flüßigkeiten ausgefällter Substanzen dienen — besonders fetthaltiger Stoffe und roter Blutkörperchen.) Lubarsch fand diesen Zellapparat in vielen Organen im ersten Lebensjahr ganz charakteristisch ausgebildet, bei Infektionskrankheiten der Säuglinge entstanden typische Veränderungen daran; am Ende des ersten Lebensjahres aber verschwindet diese makrophage Funktion fast schlagartig.

Die Vernichtung abgestorbener Zellen oder Gewebssubstanzen im Körper ist möglich einmal durch fermentative Auflösung — sei es durch Eigenfermente (Autolyse), sei es durch die der Nachbarzellen, besonders der Lympho- und Leukozyten; letzterer Modus gilt auch für Interzellularsubstanz und Fremdkörper — andererseits durch Phagozytose und intrazelluläre fermen-

tative Auflösung, wie es Gräper für den physiologischen Zelluntergang als Norm annimmt. Bei gesteigertem Zelluntergang — Verletzung, Infektion — wirken wohl beide Prozeße zusammen.

Bei physiologischer Rückbildung der Organe und Gewebe, z. B. Metamorphosen von Larven, Kaulquappen usw., wurde seit Metschnikoff's ersten Beobachtungen den Phagozyten eine wichtige Rolle bei der Zerstörung des untergehenden Gewebes zuerkannt. Zahlreiche spätere Arbeiten ergaben dann, daß auch hier die Leukozyten als Makrophagen nur die Auflösung und Fortschaffung toten oder geschädigten Materials besorgen, der Gewebszerfall bei den Metamorphosen aber auf chemischem Wege bewirkt wird — ohne Leukozytenhilfe (P. Ernst l. c. S. 156).

Nach Dehorne tritt bei Borstenwürmern bei Aufenthaltswechsel oder in schlechtem Wasser Zerfall von Muskelbündeln ein, die im Coelom frei schwimmenden, zerfallenen Fasern werden dann von Wanderzellen gefressen, die in diesem Falle, wie stets bei Vernichtung körpereigenen Materials, nur als Totengräber wirken.

In entsprechender Weise kann man wohl die Neuronophagie im wesentlichen als Reaktion auf eine primäre Schädigung der Nervenzelle auffassen, die dann durch ecto- oder mesodermale Elemente, meist durch Gliazellen, vernichtet und ersetzt wird. Doch wird Neuronophagie oft trotz schwerer Schädigung der Nervenzelle vermißt.

Gräper hält die physiologische Verschmelzung des Protoplasmas untergehender Gewebszellen mit der Nachbarzelle mit Chromatolysis des Kerns der untergehenden Zelle für Phagozytose — danach hat prinzipiell jede Gewebszelle phagozytäres Vermögen, es sei denn, daß dieser Vorgang durch Membranen, wie bei verhornenden Epithelzellen, mechanisch gehindert wird.

Podwyssozki dagegen fand, daß in Sarkomen und anderen mesodermalen Tumoren die Vernichtung untergehender Tumorzellen, durch Tumorzellen, in Karzinomen dagegen durch Leukozyten erfolgte, daß hier also Epithelien, im Gegensatz zu mesodermalen Zellen, keine phagozytäre Fähigkeit besitzen.

Nahrungsauswahl.

Bei allen Phagozyten besteht eine gewisse Nahrungsauswahl. Am geringsten scheint diese Fähigkeit bei Amöben entwickelt zu sein, die ebensowohl Nahrungsstoffe, als auch indifferente unverdauliche Partikel aufnehmen, bezw. umfließen (Schaeffer), unter Umständen aber ebenso schnell wieder verlassen oder ausstoßen.

Schaeffer fand bei Fütterung mit Sand, Quarz, unlöslichen Eiweißstoffen keine Gesetzmäßigkeiten im Verhalten der Amöben; doch glaubt er Unterschiede zwischen hungrigen und gesättigten Tieren gesehen zu haben, im Gegensatz zu Rumbler, der annahm, die Amöben fressen, den Oberflächenkräften folgend, solange wie Nahrungsaufnahme räumlich möglich ist, denn es handle sich dabei um rein physikalische Erscheinungen, die der Ernährung dienen können, aber nicht müssen.

Höher organisierte Protozoen — Heliozoen, Rhizopoden etc. — reagieren sehr fein auf verschiedene angebotene Stoffe, und bei vielen unverdaulichen Körpern bleibt bei ihnen die Nahrungseinfuhr aus.

Gewisse Protozoen (Biedermann) phagozytieren lebende kleinere Exemplare der gleichen Gattung. Alle anderen Rhizopoden nehmen zwar frisches körpereigenes Protoplasma gierig auf, verweigern aber die Annahme körperfremden (arteigenen) Protoplasmas. Die Phagepithelien des Darms von Hydra nehmen Gelatine nur auf, wenn sie mit Preßsaft aus Daphnien, ihrer gewöhnlichen Nahrung, „schmackhaft" gemacht sind (Beutler).

Die Phagozyten der Metazoen phagozytieren von körpereigener Substanz nur abgestorbene Zellen oder Zwischengewebe, außerdem Fremdkörper aller Art. Dabei gilt der Grundsatz: nicht jede Zelle frißt jeden Körper. So frißt der Mikrophag, was der Mikrophag nicht mag, und umgekehrt. Der Makrophag frißt außerdem Mikrophagen (P. Ernst).

Sarkom Makrophagen.

Eine hierher gehörende „Arbeitsteilung" hat neuerdings v. Gaza bei der Phagozytose zerfallender Sarkomzellen beobachtet (die Arbeit ist noch nicht veröffentlicht und wurde mir von Herrn Prof. v. Gaza zur Verfügung gestellt).

In ein (zerfallenes) polymorphzelliges Sarkom der Tibia wurden einige ccm Lithiumkarmin injiziert. Es entstanden (Untersuchung 6 Tage p. Inj.) umschriebene rotgefärbte Herde, in denen die Tumorzellen abgestorben waren.

Phagozyten beteiligten sich in intensiver Weise an der Histolyse; diese Heterolyse begann immer erst nach Einsetzen der Autolyse; und zwar wurden zuerst und hauptsächlich durch die Mithilfe der Leukozyten die Kerne aufgelöst; erst später umgriffen die Makrophagen die zerfallenden Sarkomzellen von außen.

Der nekrotische Tumor bot an solchen Stellen das Bild eines Wabenwerkes: das Protoplasma zu einer strukturlosen, mit Karmin diffus gefärbten Masse zusammengesintert, an Stelle der Kerne blasige Lücken, in denen neben einzelnen Kerntrümmern sich polynukleäre Leukozyten ohne Einschlüsse fanden; dem Protoplasma von außen angelagert Makrophagen, die in diesem Bezirk besonders reichlich gespeichert und zum Teil stark vergrößert waren.

Vielleicht lassen sich diese Beobachtungen mit der Tatsache in Zusammenhang bringen, daß bei vielen pathologischen Prozessen Leukozyten nur in gewissen Zeitabschnitten vorhanden sind und eine fermentative Rolle zu spielen scheinen.

Phagozyten im retikulo-endothelialen Apparat.

Die verschiedenen Elemente des retikulo-endothelialen Apparates haben eine verschieden starke Affinität zu Vitalfarbstoffen. Kanner fand, daß bei Stauungsikterus nur die Kupfferschen

Sternzellen Gallenpigment aus dem Blut phagozytierten, während die übrigen Retikuloendothelien es nicht zu speichern scheinen.

Bei intraperitonealer oder intravenöser Injektion von Tusche und Pyrrolblau wird (nach Befunden von Pfeiffer und Staudenath, und Boerner-Pazelt) erstere vorwiegend in Retikuloendothelien von Leber, Milz, Knochenmark, letzteres besonders in den Retikuloendothelien von Bindegewebe und Lymphdrüsen gespeichert. Dabei ist Art der Speicherung — grob- oder feinkörnig — und Verteilung weitgehend abhängig vom Zustand der Farblösungen, besonders ihrer Stabilität.

Bei reichlicher Tuschespeicherung, besonders im Netz, ergab sich eine eigenartige und unter Umständen therapeutisch verwertbare Tatsache: wurde nach beendigter Speicherung Trypsin intraperitoneal injiziert, so blieb die Vergiftung des Versuchstieres aus, obwohl die Resorption aus der Bauchhöhle nicht behindert war, denn die intrazellulär als feiner Schlamm abgelagerte Kohle adsorbierte das Ferment und machte es unschädlich.

Der Schutz erstreckte sich nur auf das Ferment, nicht auf seine Verdauungsprodukte, und galt nur bei intraperitonealen Injektionen desselben; bei Injektionen von Pepsin, sowie bei subkutaner Trypsininjektion, trat jedesmal die Vergiftung ein.

Bei dem eben erwähnten Versuch wird die Vergiftung gehindert dadurch, daß im Erfolgsorgan, d. h. in der Zelle, das Gift unschädlich gemacht, adsorbiert wird. Die Aufnahme des Giftes in die Zelle ist dabei nicht behindert.

Die Frage aber, ob durch Anfüllen mit indifferenten Stoffen, also Speicherung, eine Blockierung phagozytärer Zellen möglich ist, bedarf noch der Entscheidung.

Blockierung des retikulo-endothelialen Apparates.

Blockierung im Sinne einer Unfähigkeit einzelner Zellen, nach ausgiebiger Phagozytose weitere Stoffe aufzunehmen, soll möglich sein nach alten Beobachtungen an Amöben, die Karmin in solchen Massen aufnehmen, daß sie infolge Platzmangels für weitere Nahrung verhungerten.

Ob jedoch eine Blockierung des Retikulo-endothelialen Apparates im Organismus durch reichliche Speicherung intravenös gebotener Stoffe gelingt, ist noch umstritten.

Lephene (und ebenso Eppinger) deuteten ihre Befunde bei Tauben (bzw. Hunden) im Sinne einer Bejahung dieser Frage: nach 24stündiger reichlicher Kollargolspeicherung blieb bei Tauben der Ikterus nach Arsenwasserstoff-Vergiftung aus, weil die kollargolgefüllten Sternzellen keine Erythrozyten mehr phagozytieren konnten.

Minkowski und seine Schüler dagegen haben sich scharf gegen die Möglichkeit einer Blockade ausgesprochen.

Schon Schulemann und Goldmann stellten fest, daß Sternzellen, die saure Farbstoffe gespeichert hatten, noch Tusche aufnahmen; dem entsprechen zahlreiche neue Befunde (Seifert, Siegmund,

Kuczinski; Rosenthal-Moses-Petzal u. a. Autoren) daß trotz hochgetriebener „Blockierung" mit Ferrum saccharatum noch Speicherung von nachträglich injizierter Tusche eintritt, und auch umgekehrt Eisen in tuschegespeicherten Zellen aufgenommen wird. Dabei ist der sekundär aufgenommene Stoff meist im Zentrum der Zelle gelagert, der zuerst gespeicherte ringförmig um denselben angeordnet. Viele Zellen sind nur mit dem sekundär injizierten Stoff beladen, ein Beweis dafür, daß eine kompensatorische Reizwucherung des retikuloendothelialen Apparates durch die Speicherung ausgelöst wird. Diese Leistungssteigerung (Kuczinski) vermag natürlich gegebenenfalls eine effektive Blockade illusorisch zu machen.

Auch Steudemann fand Phagozytose und Vitalfärbung in den gleichen Zellen, wenn er gleichzeitig kolloidalen Farbstoff und phagozytable Objekte anbot. Er bewerkstelligte dies durch Injektion von Lithionkarmin, das auf Erytrozyten zerstörend wirkt. Dabei beteiligten sich an der Phagozytose in der Milz: Pulpazellen, Makrophagen und Sinusendothelien; niemals aber Follikelzellen.

Phagozyten als Beförderungsmittel.

Die Rolle, die phagozytäre Wanderzellen als Beförderungemittel spielen, scheint nicht von großer Bedeutung; zum Teil wird sie ganz geleugnet.

Neuere Untersuchungen, z. B. über die natürliche Abwanderung des Hautpigments in die Lymphdrüsen Keye ergaben, daß aus stark pigmentierter Epidermis das feinkörnige Pigment in den Lymphbahnen abfließt; erst in den Lymphdrüsen wird es gespeichert und abgebaut Im Corium finden sich nur ganz vereinzelte Zellen mit Pigmentgranulis, die für den Transport, schon wegen ihrer geringem Anzahl, garnicht in Frage kommen.

Für den Transport kleiner Partikelchen aus der Bauchhöhle scheinen Wanderzellen auch nicht, oder jedenfalls nicht in den ersten Stunden, in Betracht zu kommen. Bei jungen Katzen dringt intraperitoneal injizierter Ruß oder Karmin unter dem Einfluß der Atembewegungen durch die Lymphbahnen des Zwerchfells ein (bei Foeten, die noch nicht geatmet hatten, fehlte auch dieser Transport) und wird erst in den mediastinalen Lymphdrüsen gespeichert (Cuningham).

In jüngster Zeit hat allerdings Gruber mit Sicherheit nachgewiesen, daß in der Mamma der Wöchnerin mit Fett beladene Makrophagen dieses in den Körper transportieren, wenn es nicht auf physiologischem Wege nach außen gelangen kann.

Ältere Beobachter (P. Ernst, S. 160) nehmen an, daß die Fettkörnchenkugeln im embryonalen und kindlichen Gehirn der Herbeischaffung von Fettstoffen zum Aufbau der Marksubstanz dienen. Diese Zellen sind natürlich prinzipiell verschieden von pathologischen Körnchenzellen des Gehirns, die als Abräumzellen fungieren.

In gefäßlosen Organismen erfolgt ganz allgemein die Weitergabe von Stoffen, auch von geformten, von Zelle zu Zelle direkt, ohne Vermittlung von Wanderzellen; eine derartige Weitergabe von Fettropfen

in Mesodermzellen von Hydra beobachte Beutler. Dagegen fand Boerner-Patzelt bei vitalgefärbten Säugetieren, daß Tusche (bei genügend langer Beobachtung) sekundär durch Wanderzellen an andere stapelungsfähige Orte geschleppt werden kann, während gespeichertes Eisen lähmend auf den Wandertrieb der Makrophagen zu wirken scheint.

Auch ist bei intravenöser Tuscheinjektion in die Froschzunge beobachtet (Herzog), daß Gefäßendothelien nach der Speicherung als amöboide Wanderzellen ins Gewebe eindringen und hier den histiozytären Zellen entsprechen (ein Befund, der sich im im übrigen keineswegs mit der allgemeinen Ansicht, daß die Histiozyten von den Adventitiazellen abstammen, deckt.)

Für die Anthracosis der Lunge nimmt man bisher allgemein an, sie entsteht so, daß inhalierter Staub in den Alveolen durch Stomata oder Kittlinien zwischen den Alveolarepithelien in Lymphbahnen eindringt und nur auf dem Lymphweg, nicht durch Wanderzellen, weitergeschafft wird (Kaufmann l. c. S. 273).

Permar dagegen führt die Anthracosis auf phagozytäre Vorgänge in den Alveolen zurück. Er injizierte fein verteiltes Pigment durch die Trachea in Lungenalveolen von Kaninchen und nimmt wie Foot an, daß die dabei auftretenden Phagozyten Kapillarendothelien der Alveolenwand sind, die die Wand durchwandern, nach Pigmentaufnahme ins Interstitium zurückkehren und durch die Lymphbahnen zu den peribronchalen Lymphknoten verschleppt werden. Japanische Autoren (zit. nach Westhues) dagegen leiten neuerdings die Phagozyten in den Lungenalveolen, darunter auch die Herzfehlerzellen, von Histiozyten ab.

Beide Ansichten widerlegt Westhues. Er fand nach intratrachealen Injektionen kleiner Flüssigkeitsmengen in Lungenalveolen sehr lebhafte Phagozytose, und zwar bestand die Hauptmasse phagozytären Zellen aus Alveolarepithelien, nicht aus eingewanderten Histiozyten; beweisend dafür war, daß Histiozyten in der Lunge in geringerer Zahl vorhanden sind, als daß man sie für die ungeheure Zahl sofort auftretender freßtätiger Zellen verantwortlich machen könnte, und daß die phagozytäre Tätigkeit der Gefäßendothelien sehr gering war.

Diese Befunde stimmen überein mit ziemlich unbekannten Versuchen von Briscoe (1908), der nach intratrachealer Injektion von NaCl Lösung und von Mikroben ebenfalls Quellung, Abstoßung, Phagozytose in Alveolarepihelien beobachtete, die nur bei virulenten Erregern später durch leukozytäre Tätigkeit unterstützt wurde.

Transport der injizierten Stoffe wurde in den kurz dauernden Versuchen nicht beobachtet.

Phagozytose, Infektion und Immunität.

Metschnikoff erkannte als erster die Bedeutung der Phagozytose als Schutz- und Abwehrvorgang bei Infektionen.

Mann hat später humoralen Immunitäts- und Abwehrstoffen die Hauptrolle in diesem Kampf zuschreiben wollen, besonders auf Grund des Pfeiffer'schen Versuchs.

Metschnikoff selbst hat die Bedeutung dieser Stoffe nur im

Sinne einer Vorbereitung, Unterstützung und Erleichterung der Phagozytose anerkannt, und hält nach wie vor die Phagozytose für den wichtigsten Teil der Abwehrvorgänge, — eine Ansicht, die sehr berechtigt erscheint, wenn mann z. B. die Befunde von Koch und Rosenthal bedenkt über die Schnelligkeit, mit der avirulente Bakterien in der Blutbahn von endothelialen Elementen aufgenommen und damit unschädlich gemacht werden.

Koch, (der versuchte, experimentell der Bedeutung der Kapillarendothelien bei hämatogener Allgemeininfektion näher zu kommen) injizierte Tusche und Fettemulsion intravenös. Er fand, — analog den Erfahrungen Rosenthals mit Injektionen von apathogenen Bakterien bei Mäusen in die Schwanzvene — daß die Phagozythose sofort einsetzte. Diese Versuche mit indifferenten Stoffen, bzw. avirulenten Erregern, sind natürlich nicht ohne weiteres beweisend für pathogene und virulente Erreger. Für diese mag nach Rosenthal eine Vorbereitung durch Normal- oder Immunsera erforderlich sein.

Bei Aufnahme pathogener Keime nimmt Koch Einwirkungen der Bakterien auf die Endothelzellen an, und zwar: Zerstörung der Endothelien — die zu den septischen kapillaren Blutungen führen; oder bei Überwiegen der Fremdkörperwirkung — z. B. bei Tuberkelbazillen — Hypertrophie der Endothelien und Vermehrung der Keime. Die engen Kapillaren werden verstopft, es entsteht die sogenannte Bakterienembolie, besonders leicht in Kapillaren mit langsamer Zirkulation (Nierenglomeruli (?), Haut).

Bei Farbstoffspeicherung konnte Koch nie Embolie beobachten, Westhues dagegen fand bei intravenöser Tuschespeicherung, daß in den Lungenkapillaren die phagozytäre Fähigkeit der Endothelien sehr gering war und Thrombosen bei starker Speicherung und durch Steckenbleiben von Leukozyten, die sehr dick voll Kohle gefressen (und wohl auch in ihrer Vitalität geschädigt) waren, in den kleinen Lungengefäßen zustande kamen.

Bis jetzt besteht noch keine Einigkeit darüber, ob Bakterienausscheidung in der Niere ohne Schädigung derselben möglich ist; Koch nimmt als Vorbedingung für den Austritt der Keime eine Schädigung der Endothelien durch die phagozytierten Mikroben an. Intrazelluläre Organismen sind im allgemeinen phagozytiert (Ausnahme: Malariaplasmodien), über ihr Schicksal kann man sagen, daß sie entweder zerstört, d. h. aufgelöst und resorbiert, werden oder intrazellulär ein Weiterleben verschiedener Dauer und Qualität führen, zum Teil recht lange, sodaß eine Art Gleichgewichtszustand — analog der Symbiose — resultiert, der aber immer labil bleibt (man kann sich so den klinischen Begriff „latente oder ruhende Infektion" denken.) Verschiedene Zellen können sich gegen die gleichen Erreger verschieden verhalten, z. B. Tuberkelbazillen führen zum Untergang polynukleärer Leukozyten während die Mononukleären sich in Epitheloidzellen umwandeln.

Es ergibt sich nun die Frage: Wo entwickeln sich überhaupt pathogene Mikroben im Organismus?

Nach Nicolle-Césari bewohnen Protozoen im allgemeinen extramesodermale Zellen (mit Ausnahme der Trypanosomen, die

teils frei, teils in Phagozyten gedeihen). Pilze und Bakterien leben in Säften oder in Phagozyten — je nach Virulenz und Resistenz des Wirtes. Recurrens z. B. bevorzugt humorale Entwicklung, intrazellulär ist für ihn nur eine besondere Art der Konservierung. Pneumo-Streptokokken gedeihen humoral; mit abnehmender Virulenz erscheinen sie in Phagozyten „et moins ils s'y trouvent bien".

Meningo-, Gono und Staphylokokken und Erreger der chronischen Erkrankungen (Tuberkulose, Lepra, Rotz) leben zwar unter Umständen im Blut, sind aber unfähig, sich darin zu vermehren und gedeihen nur intrazellulär. Es handelt sich bei ihnen um Bakteriämie, wenn sie im Blut auftreten, nicht um Sepsis.

Intraperitoneal injizierte Keime bewirken beim Meerschweinchen — wenn die Mikroben phagozytär zerstört werden: lokale Entzündung; oder bei langsamer unvollständiger Aufnahme: Allgemeininfektion; die Phagozyten lassen virulente Keime unberührt und beladen sich mühelos mit anderen, avirulenten, die man ihnen bietet.

Bei humoraler Infektion (Recurrens) erfolgt Vermehrung im Blut — dem entspricht klinisch das Fieber (?) — bis die humorale Abwehr einsetzt und die Erreger untergehen, mit Ausnahme einiger Exemplare, die in Phagozyten der lymphoiden Organe konserviert werden.

Immunsera wirken im allgemeinen nicht bakterizid (Nicolle-Césari), sie erleichtern und beschleunigen aber die Phagozytose (nicht infolge einer Leistungssteigerung der Phagozyten, sondern durch Adsorption des „sensibilisierenden" Faktors an das phagozytable Objekt.

Durch Änderung der Oberflächenbeschaffenheit wird eine Koagglutination zwischen Objekt und Leukozyten herbeigeführt.

Nach Höber und Kanai handelt es sich dabei um eine Vermehrung der Globuline im Serum. Eiweißstoffe fördern in der Reihenfolge ihrer Adsorbierbarkeit die Agglutination, d. h. sie bewirken sowohl eine Senkungsbeschleunigung der Erythrozyten im Serum als auch eine Förderung der Phagozytose. Dieser Reihenfolge entsprechend ist die Verklebung in Fibrinogenlösung stärker als in Pseudoglobulin, in dieser stärker als in Albuminlösung, in Plasma stärker als in Serum. Auch geringe Mengen von Ca Cl. 2, die die Phagozytose fördern, wirken dadurch, daß sie die Adsorption der Eiweißkörper vermehren. Globulinlösungen verlieren — ebenso wie Normalserum — beim Erhitzen die Fähigkeit, die Anlagerung zu fördern, Schütteln kann dies in beiden Fällen verhindern (durch Schütteln entstehen nach Ostwald Viskositätsänderungen in kolloiden Lösungen). Immunserum aber wird (Le Fèvre) durch Erhitzen nicht inaktiviert, es ist hier also noch ein unbekannter Faktor vorhanden.

Höber und Kanai glauben, daß mindestens ein Teil der Opsoninwirkung den physikalisch-chemischen Eigenschaften der Globuline zuzuschreiben ist. Auch bei der Entzündung kommt eine Globulinwirkung zur Geltung: mit zunehmender Akuität des Entzündungsvorganges werden die Kappillarmembranen durch Quellung durchgängiger für Eiweiß und zwar in der Reihenfolge seiner Viskosität:

Albumin, Globulin, Pseudoglobulin, Fibrinogen; der Gehalt des Wundsekretes an Globulin und Fibrinogen nimmt zu (v. Gaza), was gleichbedeutend mit Förderung der Phagozytose ist.

Vielleicht hängt auch die Beobachtung Tobler's, daß die phagozytäre Kraft des Blutes von Säuglingen (geprüft an Aufnahme von Staphylococcus aureus durch Eigenleukozyten in Eigenserum) stets geringer war als die des mütterlichen Blutes, mit Unterschieden im Globulingehalt der Seren zusammen.

Tobler beobachtete außerdem, daß die phagozytäre Kraft im Blut gesunder Brustkinder geringer war als die von gesunden, künstlich ernährten Kindern, während sie bei schwer ernährungsgestörten Kindern im allgemeinen erniedrigt war, und schloß daraus, daß die an Staphylococcus aureus geprüfte Phagozytose kein Maßstab für die Widerstandskraft des Organismus gegen Infektionen ist und höchstens als Ausdruck für Abwehrbestrebungen des Körpers gelten kann.

Versuche über Phagozytose in vitro.

Neben Höbers grundlegender Arbeit, die zum Teil die Hamburger'schen Beobachtungen erklärt, sind zahlreiche Einzelbefunde über Phagozytose in vitro veröffentlicht.

Hamburger, das sei kurz erwähnt, prüfte an Suspensionen von Pferdeleukozyten und Tierblutkohle in Ringerlösung die Anlagerung und Aufnahme der Kohle bei Zusatz von Wasser von lipoidlöslichen Substanzen, von verschiedenen Ionen.

Mit ähnlicher Versuchsanordnung untersuchte Radsma die Wirkung alkalischer Neutralsalze durch Zusatz kleiner Mengen isotonischer Salzlösung zu Blut. Die Aninonen ergaben dabei die Hofmeister'sche Reihe; die Selze wirkten auf das Vermögen zu phagozytieren, nicht auf die Geschwindigkeit. Die Phagozytosefördernden Ionen erhöhen, die hemmenden erniedrigen die Oberflächenspannung.

Die phagozytäre Fähigkeit von Tierleukozyten wird durch menschliches Serum herabgesetzt (Keitler-Wolfsgruber), doch ist die Hemmung durch Serum von Säuglingen geringer als durch Seren Erwachsener (Tobler). Gesetzmässige Unterschiede zwischen Serum von Kranken und Gesunden fanden sich nicht.

Auch die Phagozytose menschlicher Leukozyten wird durch Serum von Kranken (P.P., Dem praecox, Paranoia) nicht nach irgend einer Regel beeinflusst (Plaut). Dabei fand Plaut, die Phagozytose sei in durch Erhitzen inaktiviertem Serum geringer als in NaCl.phys., er glaubt darum, daß sich im Serum neben der thermolabilen fördernden Substanz noch eine phagozytosehemmende findet, die durch Erhitzen frei wird — eine Ansicht, der die oben erwähnten Befunde Höber's widersprechen.

Auch im Liquor cerebrospin. sogar in eiweißhaltigem fand Plaut solche hemmenden Substanzen, weiß aber nicht, ob sie am Leukozyten oder am Objekt angreifen. Um eine Schädigung der Leukozyten

durch den Liquor handelte es sich nicht, denn nach dem Auswaschen des Liquors zeigten sie ein normales Verhalten.

Plaut arbeitete mit menschlichen Leukozyten aus kleinen Blutmengen und mit Reisstärke. Für Kohle, (die man meist zu diesen Versuchen benutzt) fand er ganz andere Verhältnisse; er nimmt an, daß nicht die Kohle durch Leukozyten, sondern der Leukozyt von der Kohle aufgenommen wird, denn auch gewaschene, also von Serumeiweiß freie, Leukozyten beladen sich mit Kohle in NaCl phys. und in Liquor, während sie Reis dann nicht aufnehmen.

Plaut bringt mit seinen Beobachtungen die Tatsache in Zusammenhang, daß man im Liquor bei Meningitis so selten Pneumokokken intrazellulär findet — diese wenigen liegen wohl in Zellen, die aus den Meningen ausgewandert sind. Er hält es für möglich, daß ein günstiger Erfolg intraspinaler Seruminjektionen auf Förderung der Phagozytose beruhen kann.

Zahlreiche Arbeiten aus italienischen Instituten im Sinne der Hamburger'schen Untersuchungen ergaben u. a.: die Phagozytose von Staphylokokken in vitro wird durch kurze ultraviolette Bestrahlung gesteigert, durch längere herabgesetzt, ebenso durch Milchsäure in Konzentration von 0,05 — 0,5%; man kann die größere Empfänglichkeit gegen Infektion bei Ermüdung mit einer Schädigung der Phagozytose durch vermehrte Milchsäure in Verbindung bringen (Irala). Tatsächlich wurde bei ermüdeten Meerschweinchen eine Herabsetzung des opsonischen Index festgestellt (Di Macco). Im Hunger und beim Hitzschlag ist beim Kaninchen der phagozytäre Index herabgesetzt (Ortoleva; di Renzo); bei Hyperthermie durch heißes Baden jedoch für die Dauer der Überhitzung erhöht infolge Zunahme des Serums an Opsoninen. Mit dem Sinken der Temperatur kehrt die Phagozytose schnell zur Norm zurück.

Fieber und Phagozytose.

Vielleicht besteht hier ein Zusammenhang zwischen Fieber- und Phagozytose im Sinne einer Bemerkung Metschnikoff's (Virchow Archiv 1884, Bd. 96, S. 193) „nachdem die entzündliche Reaktion als Abwehrvorgang erkannt, wird es vielleicht möglich sein, neben anderen Erscheinungen auch einmal einige Temperaturerscheinungen des Fiebers (wenn man dasselbe mit Pflüger für eine heilende Reaktion des Organismus hält) als zweckmässige Einrichtung für die Erhöhung der Tätigkeit der Leukozyten aufzufassen".

Kaninchen reagieren (nach Koch) auf Injektion steriler Farblösungen mit Fieber — analog dem Beginn akuter Infektionskrankheiten. Koch nimmt die lokale Aenderung am Gefäßapparat, dessen Endothelien speichern, als unspezifische Ursache für die Störung der Wärmeregulation an.

Der Begriff der Phagozytose.

Metschnikoff sagt, daß die eigentliche Phagozytose, d. h. das Aufnehmen fester Körper, allmählich in die Erscheinungen der Adsorption

weicher und flüssiger Stoffe übergeht. Er schneidet damit die Frage an, wie der Begriff Phagozytose zu begrenzen sei. Schulemann will ihn, wie im Anfange dieser Arbeit erwähnt, um der Einheitlichkeit der Befunde bei der Vitalfärbung willen, auch auf die Aufnahme amikroskopischer Teilchen erweitern.

Diese angebliche Vereinfachung scheint mir eher verwirrend zu wirken, und ich glaube, es erleichtert die Verständigung, wenn man den alten Begriff der Phagozytose, wie ihn P. Ernst u. A. definiert haben, beibehält, die Aufnahme kleinster amikroskopischer Teilchen aber, sofern sie in der Zelle durch Ansammlung und Ablagerung in Erscheinung tritt, als „Speicherung" bezeichnet.

Speicherung.

Die Speicherung ist — nach Ansicht de Haan's — nur eine Nebenerscheinung der resorptiven Tätigkeit der Zellen und beruht auf Ausflockung von Stoffen (Farbstoffen, Metallen u. a.), die in kolloidaler Lösung aufgenommen, aber in der Zelle ihres Schutzkolloides — das im allgemeinen aus Eiweisstoffen des Serums bestehen dürfte — beraubt wurden.

Die Tatsache, daß die gleichen Zellen, welche speichern, auch phagozytieren, erklärt sich wohl durch die besonders große Affinität dieser Zellen zu den Eiweisstoffen ihrer Umgebung. Es hängt dann nur von den angebotenen Stoffen ab, ob die Speicherzelle größere korpuskuläre Elemente, welche Eiweiß adsorbiert haben, phagozytiert oder ob sie gelöstes Eiweiß resorbiert, samt den an dasselbe durch Adsorption gebundenen, zu speichernden Stoffen.

Als Beispiel mögen hier die schon erwähnten Makrophagen im Sarkom gelten (v. Gaza); der Makrophag vernichtet kleinere Objekte durch Phagozytose; die Sarkomzellen, die ihn an Größe weit übertreffen, durch Anlagerung und Resorption, wie man sie teils durch das Aussehen der wie angenagt erscheinenden Sarkomzellen, teils durch den im Makrophagen hier besonders reichlich gespeicherten Farbstoff nachweisen kann.

Man müßte demnach das, was Schulemann unter Phagozytose zusammengefaßt hat, in Phagozytose und Speicherung trennen.

Für Phagozytose gilt dann die Definition: Phagozytose ist die Aufnahme korpuskulärer Bestandteile, und, wenn es geeignete Stoffe sind, ihre Verdauung und Assimilation, sowie Exkretion des unverdaulichen Restes.

Unter Speicherung aber ist zu verstehen: eine Anreicherung von Stoffen im Zellinneren, die, in kolloidaler oder gelöster Form aufgenommen, durch intrazelluläre Vorgänge in ihrem Lösungszustand im Sinne einer Ausflockung, bzw. Ausfällung, verändert wurden und in dieser Form zeitweilig oder dauernd im Zellprotoplasma eingeschlossen liegen bleiben.

II. Teil. Eigene Versuche

Über die Speicherung kolloider Metalle im Wundgewebe und der Cutis.

Es sind bisher Untersuchungen über die Speicherung von außen eingebrachter körperfremder Stoffe beim Menschen nicht angestellt worden.

Es bot sich mir unter Anleitung von Herrn Priv. Doz. Prof. Dr. v. Gaza Gelegenheit, die Speicherung kolloiden Silbers im menschlichen Gewebe, vor allen Dingen im Granulationsgewebe, zu beobachten. Im Folgenden sei über die hierbei erhobenen Befunde kurz berichtet:

Es wurden kleine Mengen (einige ccm) 2% Dispargenlösung mittels feiner Kanülen unter sanften Druck in Granulationsgewebe injiziert, die zum Zweck der Transplantation abgekratzt werden sollten. Die Injektion erfolgte in jedem Fall nur 1 mal, sie ist schmerzlos, eine Schädigung des Wundgewebes ist nicht damit verbunden. Man sieht makroskopisch unmittelbar nach der Einspritzung eine bläuliche Verfärbung der Injektionsstelle, bedingt durch das durchschimmernde schwärzliche Metall; im übrigen zeigt das Gewebe keine Veränderungen.

Es handelte sich um Granulationsgewebe von offen liegenden flächenhaften, gut gereinigten, langsam heilenden Wunden (Verbrennung, Röntgenulcus), in einem Falle um tuberkulöse Granulationen; in einem Fall wurde das Dispargen unter die Haut injiziert.

Das Granulationsgewebe wurde in verschiedenen Zeitabständen — zwischen 2 und 9 Tagen post inj. — abgekratzt, die gefärbten Partien kamen zur Untersuchung. Die Schnitte wurden mit Haematoxylin-Eosin oder Haemalaum gegengefärbt.

Die Befunde am Injektionsdepot.

Die histologischen Befunde bei der Durchtränkung. (Diffusfärbung). Totes Gewebe färbt sich nach den Beobachtungen früherer Autoren diffus; sowohl mit Farbstoffen, wie auch — das geht aus unseren Versuchen hervor — mit kolloidem Metall. So finden sich denn auch in allen Fällen den Injektionsstellen entsprechende Bezirke von 1—2 mm Durchmesser, in denen das Gewebe augenscheinlich durch die injizierte Lösung geschädigt ist. In diesen Herden oder Depots sind alle Gewebselemente diffus gefärbt, gelb bis dunkelbraun, je nach der Intensität der Durchtränkung mit Dispargen. Die Gefäße sind zum Teil thrombosiert. Die geschädigten und abgestoßenen Zellen sind diffus gefärbt. Die Adventitiazellen und Gefäßendothelien scheinen den Farbstoff besonders gierig an sich zu reißen.

An der Peripherie des Depots erstreckt sich die Diffusfärbung im wesentlichen auf das fibrizilläre Zwischengewebe. Dazwischen liegen neben ungefärbten Zellen solche, die außer einer Braunfärbung des Protoplasmas reichliche Einlagerungen von gespeichertem Silber zeigen, sowie typische Speicherzellen.

Einwanderung ins geschädigte Gebiet. Die ungefärbten Zellen im geschädigten Gebiet (und die Speicherzellen) erfüllen das Maschenwerk zwischen den Fibrillen mehr oder weniger dicht. Sie sind stellen-

weise so zahlreich, daß man an eine Einwanderung denken muß. Es handelt sich dabei im wesentlichen um Leukozyten und Makrophagen. Warum einmal die eine, im andren Fall die andere Zellart überwiegt, bleibt unklar. Auf der Oberfläche dieser Zellen findet man gelegentlich feine schwarze Niederschläge, sodaß die Zellen wie bestäubt aussehen, und zwar ist dies besonders bei den polynukleären Leukozyten der Fall. Dagegen finden sich im Inneren der Leukozyten nur vereinzelte Granula, während die Makrophagen im Herd aufs äußerste mit Silberkörnchen vollgestopft sind.

Speicherung entfernt vom Depot. Außerhalb des Schädigungsherdes erscheint das Gewebe — bis auf die Speicherzellen — unverändert. Das Dispargen ist hier stark verdünnt, wirkt daher weder schädigend, noch diffus färbend; seine Konzentration ist aber noch so groß, daß bestimmte Zellarten, die gleichen, die auch sonst mit Vitalfarbstoffen sich färben, es speichern. Es sind dies, wie schon oben erwähnt, Makrophagen und Fibroblasten.

Speichernde Zellformen: Die Makrophagen sind rundliche oder verästelte, oft platte Zellen von wechselnder Größe, in deren Protoplasma bei geringgradiger Speicherung unregelmäßig verteilt kleine und größere Körnchen des ausgeflockten Silbers liegen; im Herd und in der Nähe desselben, also an Stellen mit starker Speicherung, sind sie zu großen kugeligen Gebilden angeschwollen, die dicht mit klumpigen schwarzen Massen vollgestopft sind. Der Kern ist an die Seite gedrängt oder durch die Einschlüsse völlig verdeckt. In Makrophagen mit mittelstarker Speicherung sieht man bisweilen schwärzliche Granula in braunen Vakuolen liegend. Neben der Silberspeicherung weisen einzelne Makrophagen als Einschlüsse phagozytierte Leukozyten auf.

Im Gegensatz zu den Makrophagen speichern die Fibroblasten das Silber in staubfeinen Körnchen, die im Protoplasma an beiden Polen des Kernes angeordnet sind und nie so zahlreich werden, daß sie den Kern verdecken. Form und Größe der spindeligen Zellen wird durch die Speicherung nicht verändert, auch da nicht, wo die Fibroblasten in der Nähe des Herdes neben extrem gespeicherten Makrophagen liegen.

Die polynukleären Leukozyten speichern nur in Form vereinzelter Granula und nur dort, wo ein großes Angebot kolloidalen Silbers besteht, also im Herd und in der Nähe desselben und wie es scheint, nur in den ersten Stunden bis Tagen. Stets überwiegt die Anlagerung feiner ausgeflockter Körnchen über die geringfügige Speicherung; oft läßt sich nicht entscheiden, ob es sich um angelagerte oder um intrazelluläre Partikel handelt.

In Lymphozyten, Plasmazellen und Riesenzellen wurde keine Speicherung beobachtet; Endothelien speichern nur im Herd und auch da selten; Epithelzellen speicherten in dem einen untersuchten Fall von tuberkulösem Granulationsgewebe nicht — im Gegensatz zu den Befunden von Kiyono (Die vitale Karminspeicherung, Monographie) - doch erklärt sich dieser Unterschied vielleicht daraus, daß Kiyono's Befunde an Tieren erhoben wurden, die lange und

intensiv mit Vitalfarbstoffen behandelt worden waren, während es sich hier um einmalige Färbung mit relativ kleinen Mengen von Dispargen handelt.

Diffusfärbung im ungeschädigten Gewebe:

findet sich als hellbräunliche Färbung aller Gewebsanteile in den ersten Tagen; es handelt sich dabei um eine ganz leichte Färbung, die offensichtlich harmlos, nicht gewebstötend, ist. Wahrscheinlich ist diese diffuse Durchtränkung immer der Befund in den ersten 24 Stunden nach der Injektion, auf den erst später die Speicherung folgt.

In einigen länger gespeicherten Präparaten findet sich in einzelnen Makrophagen und Fibroblasten, die entfernt vom Depot in völlig unverändertem Gewebe liegen, neben einer Speicherung mittleren Grades eine diffuse gelbliche bis hellbraune Färbung des Protoplasmas, der Diffusfärbung im Herd entsprechend.

Es ist schwer entscheidbar, ob es sich in diesen Fällen a) um geschädigte Zellen, oder b) um die Vorstufen der Speicherung handelt. Das letztere ist das Wahrscheinlichste, denn erstens liegen diese Zellen in ganz unverändertem Gewebe, oft dicht neben Speicherzellen ohne Diffusfärbung, zweitens aber liegt es nahe, als Beginn der Ablagerung ganz allgemein eine diffuse Durchtränkung der Zelle mit dem Farbstoff anzunehmen, der dann — im Sinne De Haan's — in der Zelle ausgeflockt wird, wenn man nicht eine Ausflockung schon an der Zelloberfläche und nachfolgende Einverleibung annehmen will.

Für letztere Annahme ist wenig Grund vorhanden. Derartige Auflagerungen sind nur auf polynukleären Leukocyten häufiger zu finden, d. h. bei der Zellform, die am wenigsten speichert.

Verteilung der Speicherzellen im Gewebe.

Die Speicherzellen liegen im Gewebe zerstreut mit nicht speichernden Zellen untermengt. Im Granulationsgewebe speichern die adventitiellen Zellen der kleinen Gefäße, und zwar auch hier nicht alle, sondern stets nur einzelne Zellen unter mehreren gleichartigen, die das Gefäß zwiebelschalenförmig umgeben.

Die Zahl der gespeicherten Zellen nimmt mit der Entfernung vom Depot ab, entsprechend der Verdünnung des diffundierenden Dispargens.

Gespeicherte Fibroblasten sind nur in solchen Geweben zu finden, die auch sonst reichliche Fibroblasten enthalten, also Subcutangewebe, Cutis, älteres Granulationsgewebe. Gespeicherte Makrophagen dagegen waren stets vorhanden, ja es besteht augenscheinlich eine Vermehrung der Makrophagen durch den Reiz des Metallkolloids (also Fremdstoffes). Anders läßt sich die große Zahl der Makrophagen in der Nähe des Herdes, an dessen Peripherie sie häufig als dichter Wall angeordnet sind, nicht erklären.

Schlußfolgerungen.

Die bei der Vitalfärbung von Granulationsgewebe und Haut des Menschen erhobenen Befunde stimmen im großen und ganzen mit den bei Vitalfärbung an Versuchstieren gemachten Beobachtungen überein

Bemerkenswert ist die außerordentliche Mächtigkeit der Makrophagen-Vermehrung und Ansammlung. Es scheint sich dabei um eine Vermehrung der Makrophagen an Ort und Stelle zu handeln, durch den Reiz der Speicherstoffe — in diesem Fall das Dispargen, — ausgelöst, also um eine Leistungssteigerung im Sinne der von Kuczynski u. a. Autoren für den reticulo endothelialen Apparat beobachteten kompensatorischen Reizwucherung.

Eigenartig ist die Anlagerung der Körnchen an die polynukleären Leukozyten. Sie entspricht dem, was Hamburger und viele spätere Autoren in vitro bei Phagozytoseversuchen feststellten: nämlich, daß den Leukozyten in besonderem Maße (und im Gegensatz zu anderen Zellen) die Fähigkeit eigen ist, feste Partikelchen aus Suspensionen an ihrer Oberfläche anzulagern.

Ferner fällt auf die Diffusfärbung mit Körnchenablagerung auf den geschädigten und gefärbten Fibrillen und Zellen.

Den Hergang der Diffusfärbung und Speicherung kann man sich vielleicht unter Zugrundelegung der Anschauungen de Haan's wie folgt vorstellen:

An der Injektionsstelle wird das Gewebe durch die unphysiologische Lösung abgetötet oder geschädigt, und zwar unterliegt anscheinend das Zwischengewebe leichter dieser Einwirkung als die zelligen Elemente. Alle so veränderten Gewebsteile werden mit Farbstoff durchtränkt, etwa wie Fließpapier, oder wie histologische Präparate bei der Färbung. Dabei reißen auch hier die Zellen, und bemerkenswerter Weise Endothelien und adventitielles Gewebe, den Farbstoff besonders gering an sich.

Das nicht sogleich in Zellen oder Fasern eingedrungene Dispargen tritt mit den Eiweißstoffen der Gewebsflüssigkeit in Verbindung: ein Teil derselben scheint ausgeflockt zu werden und bildet dann die schwarzen staubförmigen Niederschläge. Diese sind auffällig reichlich auf und um die polynukleären Leukocyten zu finden. Da den Leukozyten sekretorische Fähigkeiten zugeschrieben werden, ist die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, daß die Ausflockung des Dispargens auf derartige Einflüsse der Leukozyten — etwa eine Art von extrazellulärer Verdauung und Auflösung des Schutzkolloids — zurückzuführen ist.

Ein anderer Teil des Dispargens diffundiert, vermutlich an Stoffe der Gewebsflüssigkeit locker gebunden, ins Gewebe und wird hier zugleich mit den Serumstoffen von den Speicherzellen aufgenommen. Die intrazelluläre Verdauung beraubt das Silber seiner Schutzkolloide, es flockt aus und wird, je nach der aufgenommenen Menge, in kleineren und gröberen Teilchen im Protoplasma abgelagert, wo es die Zelle nicht weiter zu schädigen scheint.

Als Muttergewebe für die Makrophagen, die sich auf den Reiz des injizierten fremden Stoffes sehr schnell und stark vermehren, kommen die Clasmatozyten des Binde- und Granulationsgewebes in Frage, im Granulationsgewebe außerdem die Zellen des hier besonders stark entwickelten und zellenreichen adventitiellen Ge-

webes der kleinsten Gefässe. Da stets nur einige Zellen dieses Zellmantels speichern, liegt die Annahme nahe, daß dieses die Mutterzellen der Makrophagen sind. Es ist aber nicht von der Hand zu weisen, daß auch im Granulationsgewebe die in so großen Mengen im Gewebe erschienenen Makrophagen auch, zum Teil wenigstens, durch Vermehrung der ortständigen Clasmatozyten entstehen.

Die Anregung zu meiner Arbeit verdanke ich Herrn Professor Dr. von Gaza, dem ich für sein förderndes Interesse herzlich danken möchte

Literatur.

(Abkürzung: Rona = Bericht üb. d. gesamte Physiol. und exper. Pharmakol. Herausg. v. Rona.)

1. Barikine, Zeitschr. f. Immunforschung, Bd. 8 1911.
2. Biedermann, Winterstein's Handbuch der vergl. Physiologie, Bd. II, 1 1911, Jena.
3. Boerner-Pazelt, Klin. Wochenschrift, Heft 11, 1923.
4. Beutler, Ruth, Zeitschrift für vergl. Physiologie, Bd. 1, H. 1, 1924.
5. A. Bakker und S. de Haan, Pflüg. Arch Bd. 199, 1923, S. 125.
6. Briscoe, S. Ch., Charlton, M. D. London. M. R. C. P. 1908.
7. Cunningham, Americ. journal of physiol. 1922, (Ref.: Rona, Bd. 24, H. 5/6, 1924.)
8. Cienkowski, Arch. f. mikr. Anat., Bd. 6, 1870.
9. Dehorne, Comptes rendus des séances de l' Acad. des Sciences, Bd. 174, 1922.
10. Ernst, p., Handbuch der allg. Pathologie, herausg. v. Krehl u. Marchand, Bd. III, 1, 1916.
11. Embden und Lange, Klin. Wochenschr. 1924, H. 4.
12. Eppinger, Die hepatolienalen Erkrankungen, Berlin 1920.
13. Le Fèvre de Arric. Comptes rendus de la Societé de Biologie, Bd. 85, 1911, (Ref. Rona, Bd. 10.)
14. Feringa, K. J. und J. de Haan, Pflüg. Arch. Bd. 197, 1922.
15. Feringa, K. J., Pflüg. Arch. 203, 1924.
16. Friedemann, N. und Schönfeld, A., Biochem. Zeitschrift, Bd. 80 1917.
17. Gräper, Arch. f. Zellforschung, Bd. 12, 1914.
18. v. Gaza, Bruns' Beitr., Bd. 110, 1918 (S. 372).
19. v. Gaza, Beobachtungen über Vitalfärbung am Sarkom. (Erscheint demnächst im Arch. f. klin. Chir.)
20. Gruber, Virch. Arch. Bd. 248. 1924.
21. Höber. H. und Kanai, T., Klin. Wochensch. 1924, H. 5.
22. Hamburger, Physik.-chemische Untersuchungen über Phagozyten, Wiesbaden 1912.
23. Herzog, F., Klin. Wochenschr. 1924, H. 13.
24. de Haan, J., Pflüg. Arch., Bd. 201, H. 3/6, 1923, S. 395.
25. de Haan, J. und Bakker, A., siehe unter 5.
26. Höber, R., Physik. Chemie der Zelle und Gewebe, Berlin 1914, S. 602.
27. Jrala, Annal. d'ig. S. g. 30, 1920 (Ref. Rona Bd. 2).
28. Jacobstal, Virch. Arch. 234, 1921.
29. Kuczinski, Virch. Arch. 239, 1922.
30. Kanai, T. und R. Höber siehe unter 21.
31. Kanai, T. Pflüg. Arch. 198, 1923.
32. Kanner, O., Klin. Wochenschr. 1924, H 3.
33. Koch, J., Zentralbl. f. Bakt. und Parasitenkunde Nr. 89 (Orig.) 1922.
34. Kaufmann, E., Lehrb. d. path. Anat. Berlin 1911.
35. Kiyono, Die vitale Kerminspeicherung. Arb. a. d. path. Inst. Freiburg 1914.
35a. Keye, Z.-Bl. f. Path. B. 34, 1923.
36. Lubarsch, Zentralbl. f. allg. Pathol. Bd. 31, (Kongreßbericht) 1920/21.
37. Lephene, G. Ziegl. Beitr. Bd. 64, 1918.
38. de Meser, Virch. Arch. 163, 1901.
39. Di Macco, Ref.: Rona, Bd. 7.

40. Metschnikoff, E., Handbuch der path. Mikroorganismen, herausgegeben von Kolle-Wassermann, Bd. II, 1, 1913.
41. Metschnikoff, E., Virch. Arch. 96, 1884.
42. Nicolle und César i, Annales de l'inst. Pasteur, Bd. 36, 1922.
43. Ortolera, V., Ref.: Rona, Bd. 20, 1923.
44. Paillot, Comptes rendus de la Societé de Biologie, Bd. 83, 1920.
45. Paillot (nur im Referat zugänglich), Journ. de méd de Lyon. (Ref.: Rona Bd. 22, 1924).
46. Plaut, Zeitschr. f. Neurol. u Psychol. 74, 1922.
47. Pfeiffer und Staudenath, Klin. Wochenschrift 1923, H. 11.
48. Permar (nur im Referat), Journ. of. med. research. 42, 1920, Ref.: Rona Bd. 6.
49. Podwyssozki, Ziegl. Beitr. Bd. 38.
50. Radsma, Arch. néerlande de physiol. Bd. 4, 1922 (Ref.: Rona Bd. 2).
50 a. Rhumbler, Arch. f. futw. Mech. B. 7, 1898.
51. Di Renzo (nur im Referat) Ref.: Rona Bd. 20, 1923.
52. Rosenthal, Zeitschr. f. Immunforschung, Bd. 31, 1921.
53. Rosenthal, Moses und Petzal, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. Bd. 4, 1924.
54. Schulemann, Biochem. Zeitschr. 1917, Bd. 80.
55. Steudemann, Fol. haematol. Bd. 18, 1914.
56. Smith und Lewis, Americ. rewiew of Tuberculosis, Bd. 6, 1922.
57. Schaeffer, Journ. of exp. Zool, Bd. 22/23, 1917.
58. Schumacher, Zeitschr. f. Anat., Bd. 64, 1922.
59 Tobler, Zeitschr. f. d. ges. exp. Med., Bd. 41, 1924.
60. Westhues, Ziegl. Beitr., Bd. 70, 1922.
61. Winterstein, Handbuch d. verg. Phys. II, 1, Jena 1911 (siehe unter 2).